

基于脑肠肽 CCK-8 研究凉血通瘀方对急性脑出血模型大鼠的神经保护作用机制

李建香¹ 刘云芳² 王君君² 顾恒² 赵杨¹ 过伟峰²

(1. 南京中医药大学附属南京中医院, 江苏南京 210022; 2. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏南京 210023)

摘要 目的:观察凉血通瘀方对急性脑出血模型大鼠的神经保护作用,并探索其作用机制。方法:将雄性SD大鼠按随机数字表法分为正常组、假手术组和造模组。造模组采用自体血注入法制作脑出血模型;假手术组以空针置入右侧尾状核,不注血。造模成功的大鼠随机分为模型组和凉血通瘀方组,每组15只;假手术组和正常组每组亦为15只。各组分别灌胃生理盐水或中药,每日1次,连续3d。模型组与凉血通瘀方组大鼠分别于造模成功后、灌胃3d后运用Longa五级评分法评价神经功能缺损程度;灌胃3d后,免疫组化法检测各组5只大鼠脑组织神经生长因子(NGF)表达,蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测各组5只大鼠脑组织脑源性神经营养因子(BDNF)蛋白表达,生化法检测各组10只大鼠脑组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量,酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测各组10只大鼠脑组织和肠组织八肽胆囊收缩素(CCK-8)含量。结果:模型组与凉血通瘀方组大鼠灌胃3d后Longa评分均明显低于造模成功后($P<0.01$),灌胃3d后凉血通瘀方组评分显著低于模型组($P<0.05$)。与正常组比较,模型组大鼠脑组织NGF平均光密度值、BDNF蛋白表达水平、SOD含量均显著降低($P<0.01$),MDA含量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,凉血通瘀方组大鼠脑组织NGF平均光密度值、BDNF蛋白表达水平、SOD含量均显著升高($P<0.01$),MDA含量显著降低($P<0.01$)。与正常组比较,模型组大鼠脑、肠组织CCK-8含量均显著降低($P<0.01$, $P<0.05$);与模型组比较,凉血通瘀方组大鼠脑、肠组织CCK-8含量均显著升高($P<0.01$)。结论:凉血通瘀方对急性脑出血模型大鼠具有一定的神经保护作用,其机制可能与增加脑、肠组织CCK-8的含量有关。

关键词 急性脑出血;凉血通瘀方;八肽胆囊收缩素;神经生长因子;脑源性神经营养因子;超氧化物歧化酶;丙二醛;Longa评分

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81704017);江苏省自然科学基金资助项目(BK20191410, BK20211011);中央本级重大增减支项目(2060302);南京市卫生科技发展专项资金项目(JQX18006)

脑出血是一种致死性脑血管病,急性期病死率高达35%~52%,幸存者常遗留明显残障^[1]。研究表明,长期以来采用的止血、脱水、外科手术等方法未能明显降低本病的致残率和死亡率^[2]。实践证明,通腑泻热法治疗中风实证,可以开窍醒脑,减轻脑损伤^[3]。前期研究证实,由国医大师周仲瑛创制的凉血通瘀方,治疗急性脑出血临床疗效显著^[4-6]。本方化裁自桃核承气汤和犀角地黄汤,有通腑泻下祛瘀之功,使气血得以敷布,病情得有转机,达到“上病下取”“从肠治脑”的目的。

前期研究发现,凉血通瘀方可以增加排便,改善肠道功能,调节肠-脑轴,影响脑肠肽^[7]。八肽胆囊收缩素(cholecystokinin-8, CCK-8)作为一种典型脑肠肽,广泛分布于胃肠道和中枢神经系统,是研究肠-脑轴的重要切入点。现代研究证实,CCK-8是一种内源性神经保护因子,具有神经保护和修复作用,可

促进神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的合成,改善氧化应激状态^[8-9]。

课题组临床研究发现,凉血通瘀方可通过提高神经营养因子、减轻氧化应激以改善脑出血患者症状和体征^[6]。本研究以脑出血模型大鼠为研究对象,观察给予凉血通瘀方干预后大鼠脑组织NGF、BDNF以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的变化,以明确凉血通瘀方的神经保护作用,通过检测大鼠脑组织和肠组织CCK-8的含量以探讨本方神经保护作用的可能机制。

1 实验材料

1.1 实验动物 SPF级雄性SD大鼠,6~8周龄,体重(200±20)g,由浙江省实验动物中心提供,许可证号:SCXK(浙)2014-0001。动物饲养于南京中

医药大学实验动物中心,光照黑暗交替,饲养室温度20~25℃,湿度40%~60%。适应性饲养7 d。本实验通过南京中医药大学实验动物伦理委员会审查(批号:201805A026)。

1.2 药物 凉血通瘀方(大黄10 g、水牛角30 g、生地黄20 g、赤芍15 g、牡丹皮10 g、石菖蒲10 g)中药饮片由南京中医药大学附属南京中医院药学部提供。水牛角先煎20 min,加入生地黄、赤芍、牡丹皮、石菖蒲,煮沸10 min,加入大黄再次煮沸10 min,倒出药液,再加水煮沸10 min,过滤合并2次滤液,浓缩至1.2 g/mL。

1.3 主要试剂与仪器 NGF抗体(批号:bs-0067R)、柠檬酸钠抗原修复液(批号:C02-02001)、生物素标记的羊抗兔IgG二抗(批号:bs-0295G)、DAPI(批号:C02-04002)、DAB试剂盒(批号:C02-04001)、苏木素-伊红染色试剂盒(批号:C02-04004)购自北京博奥森生物技术有限公司;BDNF抗体(批号:ab108319)、GAPDH抗体(批号:ab181602)、二抗(批号:ab6722)购自Abcam公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号:P0010)、SOD试剂盒(批号:S0101)、MDA试剂盒(批号:S0130)购自上海碧云天生物技术有限公司;CCK-8酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号:E12186R-1)购自南京奥青生物技术有限公司。

脑立体定位仪(加拿大David Kopf Instruments公司,型号:990-685),注射泵控制器(中国保定兰格恒流泵有限公司,型号:TJ-1A),多功能开颅钻(日本Makita公司,型号:6222D),生物显微镜(德国莱卡公司,型号:DM2500型),超灵敏化学发光成像仪(美国GE公司,型号:LAS4000mini),酶标仪(美国PerkinElmer公司,型号:EnSpire)。

2 实验方法

2.1 模型制备 采用改良自体血注入法制作脑出血大鼠模型^[10]。麻醉动物,将其俯卧固定于脑立体定向仪,头部正中切开,确定前囟点,选择前囟点右侧中线旁开3 mm、冠状缝前0.2 mm处,定位尾状核,颅骨钻孔;反转暴露尾根腹侧,分离尾动脉,微量进样器刺入,抽取50 μL血液;微量进样器固定于立体定位仪,于钻孔处缓慢进针6 mm;以5 μL/min速度注入血液,注射结束采用二次退针法,骨蜡封闭颅孔。麻醉苏醒后,使用Longa五级评分法对造模大鼠进行评分,1~3分的动物为造模成功。

2.2 分组与给药 SD大鼠按照随机数字表法随机分为正常组、假手术组、造模组。造模组按2.1项下方法造模,选取30只造模成功的大鼠随机分为模型

组、凉血通瘀方组,每组15只。假手术组大鼠处理方法同造模组,以微量进样器空针置入尾状核,不注射血液,选术后存活的大鼠15只入组。正常组亦取15只入组。凉血通瘀方组以15 g/kg给予凉血通瘀方煎剂灌胃,正常组、假手术组、模型组灌胃等量生理盐水,根据前期给药后1 d、3 d、5 d三个时间点的实验结果^[7],本研究各组均每日灌胃1次,连续3 d。凉血通瘀方剂量根据人体和动物的等效剂量进行换算。既往研究采用凉血通瘀方高、中、低剂量分别给药,发现中剂量对急性脑出血动物脑功能改善效果最好^[11],因此本研究选择15 g/kg剂量进行实验。

2.3 标本采集与处理 末次给药后,模型组、凉血通瘀方组大鼠采用Longa五级评分法评价神经功能缺损程度。评分完成后,各组随机取5只大鼠,麻醉后开胸,暴露心脏,心内依次灌注生理盐水、4%多聚甲醛,取出血灶边缘脑组织,石蜡包埋,用于检测脑组织NGF表达。各组剩余10只大鼠处死后取出血灶边缘脑组织和回盲部肠组织,-80℃保存,其中随机取5只大鼠脑组织进行BDNF蛋白检测,取全部10只大鼠脑组织进行SOD、MDA含量检测,取全部10只大鼠脑组织和肠组织进行CCK-8含量检测。

2.4 指标检测

2.4.1 Longa五级评分法评价神经功能缺损程度 分别于造模成功后、灌胃3 d后对模型组与凉血通瘀方组进行神经功能缺损程度评价。采用Longa五级评分法,具体标准如下:0分,无体征;1分,不能完全伸直前肢;2分,一侧肢体瘫痪,有追尾现象;3分,不能站立或者打滚;4分,无自发性活动,有意识障碍。由统一培训的研究人员对大鼠进行评分,每只动物重复评价3次,每次间隔1 min,取平均值。

2.4.2 免疫组化法检测脑组织NGF表达 取各组5只大鼠脑组织石蜡切片,脱蜡脱水,抗原修复,血清封闭,一抗、二抗孵育,显色,显微镜下观察,适时终止;苏木素复染,脱水,封片;生物显微镜观察(×400),以胞浆或胞核棕黄色颗粒为阳性染色。选取血肿周围脑组织3个视野。应用Image pro plus 6.0软件分析图像,得到累积光密度值(IOD)和像素面积(Area),以IOD/Area值为平均光密度值。

2.4.3 蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测脑组织BDNF蛋白表达 取各组5只大鼠脑组织,加入蛋白裂解液,球磨机匀浆。充分裂解后,4℃离心(离心半径10 cm,14 000 r/min,5 min)2次,取上清。按BCA蛋白浓度测定试剂盒说明书配置,测吸光值,计算样本蛋白浓度,SDS-PAGE电泳分离蛋白,湿

法以25 V转膜20 min,5%脱脂奶粉TBST溶液封闭,室温慢摇2 h。5%脱脂奶粉配制一抗,抗体浓度为1:1000,置入一抗,4℃过夜,配制二抗,浓度为1:5000,室温震荡孵育2 h,吸弃二抗稀释液,TBST洗膜3次,每次5 min。根据说明书配制显影液6 mL,置入化学发光成像仪内曝光。所得图像经Image J处理,检测各组图像灰度值。

2.4.4 生化法检测脑组织SOD、MDA含量 取各组10只大鼠脑组织,加入裂解液研磨成匀浆,4℃离心(离心半径10 cm,3000 r/min,10 min),取上清液。采用WST-8法检测SOD含量,按照说明书配制SOD检测缓冲液、WST-8/酶工作液和反应启动工作液,于96孔板加样显色,记录酶标仪上吸光度值;采用硫代巴比妥酸反应法检测MDA含量,按照说明书配制MDA检测工作液和标准品,于96孔板加样显色,记录酶标仪上吸光度值。

2.4.5 ELISA法检测脑组织和肠组织CCK-8含量 取各组10只大鼠脑组织和肠组织,加入裂解液RIPA(每100 mg组织中加入1 mL RIPA),研磨匀浆,4℃离心(离心半径10 cm,3000 r/min,10 min),取上清液,参照说明书操作,酶标仪上测吸光度,计算浓度。

2.5 统计学方法 采用SPSS 25.0统计软件对数据进行分析。计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示。两组间比较采用 t 检验;多组间比较采用方差分析,方差齐采用LSD法进行多重比较,方差不齐采用Dunnett's T3法进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 模型组与凉血通瘀方组大鼠Longa评分比较 模型组和凉血通瘀方组大鼠造模成功后Longa评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);2组大鼠灌胃3 d后Longa评分均显著低于造模成功后($P < 0.01$);灌胃3 d后,凉血通瘀方组Longa评分显著低于模型组($P < 0.05$)。见表1。

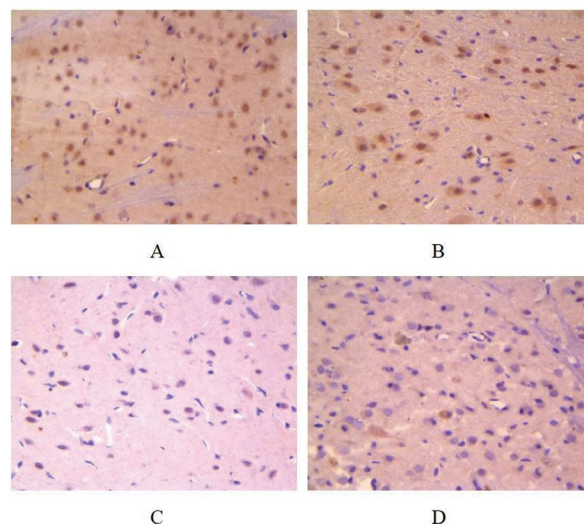
表1 模型组与凉血通瘀方组大鼠造模成功后、灌胃3 d后Longa评分比较($\bar{x} \pm s$) 单位:分

组别	动物数/只	造模成功后评分	灌胃3 d后评分
模型组	15	2.40 ± 0.63	1.60 ± 0.91 ^{##}
凉血通瘀方组	15	2.47 ± 0.52	0.93 ± 0.59 ^{##}

注:与本组造模成功后比较, $P < 0.01$;与模型组同时期比较, $P < 0.05$ 。

3.2 各组大鼠脑组织NGF表达比较 与正常组和假手术组比较,模型组大鼠脑组织NGF平均光密度值显著降低($P < 0.01$),凉血通瘀方组平均光密度值显著升高($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,凉

血通瘀方组大鼠脑组织NGF平均光密度值显著升高($P < 0.01$)。见图1、表2。



注: A-正常组; B-假手术组; C-模型组; D-凉血通瘀方组

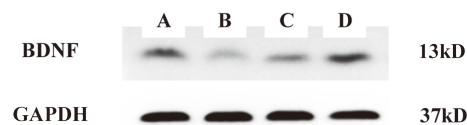
图1 各组大鼠脑组织NGF表达($\times 400$)

表2 各组大鼠脑组织NGF平均光密度值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	NGF
正常组	5	77.42 ± 14.47
假手术组	5	76.37 ± 12.65
模型组	5	45.38 ± 9.82 ^{**△△}
凉血通瘀方组	5	93.41 ± 11.18 ^{*△△##}

注:与正常组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$;与假手术组比较, $\triangle P < 0.01$;与模型组比较, $##P < 0.01$ 。

3.3 各组大鼠脑组织BDNF蛋白表达水平比较 与正常组比较,假手术组和模型组大鼠脑组织BDNF蛋白表达水平显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),凉血通瘀方组表达水平显著升高($P < 0.05$);与假手术组和模型组比较,凉血通瘀方组大鼠脑组织BDNF蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$)。见图2、表3。



注: A-正常组; B-假手术组; C-模型组; D-凉血通瘀方组

图2 各组大鼠脑组织BDNF蛋白表达

表3 各组大鼠脑组织BDNF蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	BDNF
正常组	5	0.49 ± 0.04
假手术组	5	0.39 ± 0.02 [*]
模型组	5	0.38 ± 0.03 ^{**}
凉血通瘀方组	5	0.61 ± 0.05 ^{*△△##}

注:与正常组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$;与假手术组比较, $\triangle P < 0.01$;与模型组比较, $##P < 0.01$ 。

3.4 各组大鼠脑组织SOD和MDA含量比较 与正常组和假手术组比较,模型组大鼠脑组织SOD含量显著降低($P<0.01$),MDA含量显著升高($P<0.01$);凉血通瘀方组大鼠脑组织SOD、MDA含量均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,凉血通瘀方组大鼠脑组织SOD含量显著升高($P<0.01$),MDA含量显著降低($P<0.01$)。见表4。

表4 各组大鼠脑组织SOD和MDA含量比较($\bar{x}\pm s$) 单位: $\mu\text{mol/L}$

组别	动物数/只	SOD	MDA
正常组	10	1.39 ± 0.13	18.54 ± 1.37
假手术组	10	1.34 ± 0.19	19.93 ± 1.98
模型组	10	$0.94\pm 0.13^{**\Delta\Delta}$	$29.81\pm 1.93^{*\Delta\Delta}$
凉血通瘀方组	10	$1.94\pm 0.18^{**\Delta\Delta\#}$	$24.35\pm 1.74^{**\Delta\Delta\#}$

注:与正常组比较, $**P<0.01$;与假手术组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较, $\#P<0.01$ 。

3.5 各组大鼠脑组织和肠组织CCK-8含量比较 与正常组和假手术组比较,模型组大鼠脑组织、肠组织CCK-8含量均显著降低($P<0.01$, $P<0.05$),凉血通瘀方组含量均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,凉血通瘀方组大鼠脑组织、肠组织CCK-8含量均显著升高($P<0.01$)。见表5。

表5 各组大鼠脑组织和肠组织CCK-8含量比较($\bar{x}\pm s$) 单位: pg/mL

组别	动物数/只	脑组织CCK-8	肠组织CCK-8
正常组	10	223.18 ± 9.90	250.21 ± 11.29
假手术组	10	221.53 ± 12.10	253.91 ± 15.99
模型组	10	$200.60\pm 8.50^{**\Delta\Delta}$	$229.17\pm 15.29^{\Delta}$
凉血通瘀方组	10	$251.36\pm 15.25^{**\Delta\Delta\#}$	$292.64\pm 13.26^{**\Delta\Delta\#}$

注:与正常组比较, $*P<0.05$, $**P<0.01$;与假手术组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$;与模型组比较, $\#P<0.01$ 。

4 讨论

脑出血属中医学“中风”范畴,颅内血肿形成后继发脑水肿、脑组织受压甚至脑疝等,导致神经元不可逆损伤,患者常遗留明显的神经功能缺损症状。如何保护急性脑出血受损周边组织、促进神经修复是亟待解决的问题。目前相关神经保护剂尚未受到广泛认可,需要进行高质量、大样本的随机对照试验以进一步证实^[12,21]。

通腑泻热法治疗中风始于金元,后世广泛应用。通腑泻热,“釜底抽薪”,腑气畅通,往往神明清爽,病情逆转。急性脑出血常合并阳明腑实证,风火痰瘀内结,气机逆乱,通降失司,积滞内停;肠腑浊气壅塞,火升阳亢,上扰清明。现代研究发现,脑出血后中枢神经受损,自主神经功能紊乱,胃肠蠕动缓慢,长期卧床、脱水治疗,加重肠道缺水;胃肠毒素蓄积,

透过肠黏膜屏障,进入血液;胃肠运动迟缓可增加腹压,加重颅内压升高^[13]。通腑泻热以开窍醒脑,体现了“脑病治肠”的治疗学理念。

国医大师周仲瑛根据多年临证经验提出,对于急性中风邪实证,临床可应用凉血通瘀法,以下为度,达到“上病下取”“从肠治脑”的目的。凉血通瘀方具有凉血散瘀、通腑泻热之功效。方中大黄通腑泻热、逐瘀祛邪,水牛角清热泻火、凉血宁血,二者合用阻断血热煎熬成瘀,防止瘀热生风化痰;生地黄滋阴养血、凉血清热;赤芍、牡丹皮凉血散瘀;石菖蒲走窜上行,直达巅顶。

本研究采用改良自体血注入法制作脑出血大鼠模型,造模效果稳定。前期研究表明,假手术组会出现因手术造成的脑组织轻微损伤,与正常组的实验结果可能存在一定程度的差异,故本研究同时设立正常组和假手术组以帮助验证手术操作是否会引发实验数据的差异。结果表明,与正常组比较,假手术组大鼠脑组织NGF表达和SOD、MDA含量,脑、肠组织CCK-8含量差异无统计学意义($P>0.05$),脑组织BDNF蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。

本研究观察了凉血通瘀方对急性脑出血大鼠的神经保护作用,并探索其机制。NGF和BDNF是中枢神经系统重要的神经营养因子,对神经元生长分化发挥关键作用,与脑卒中密切相关,可保护受损神经元^[14-15]。NGF可促进脑出血后轴突再生,激活血肿灶周围神经干细胞增殖,促进周围组织新生血管形成^[16]。BDNF能减轻脑出血神经元受损死亡,促进神经元分化生长和卒中后的运动、感觉康复^[17]。本研究结果表明,凉血通瘀方可显著升高急性脑出血模型大鼠脑组织NGF和BDNF蛋白表达,表明本方可促进神经元的激活,具有神经保护作用。氧自由基导致脑出血后脑损伤,诱导神经元凋亡。SOD主要防御超氧阴离子自由基的强氧化,对抗氧自由基损伤。急性脑出血后周围组织水肿缺血缺氧、继发性颅内压增高、脑组织代谢紊乱等,催化产生大量氧自由基,产生脂质过氧化物MDA,破坏细胞膜的生物结构^[18-19]。本研究发现凉血通瘀方可升高急性脑出血模型大鼠脑组织SOD含量,降低MDA含量,减轻脑出血后氧化应激。

现代肠-脑轴理论的提出、脑肠互动学说的发展为研究脑肠相关疾病奠定了基础。脑肠肽是脑肠共有激素,可调节脑肠互动,CCK-8以神经递质形式参与脑出血的发生发展^[20],具有神经保护作用。研究发现,CCK-8可促进NGF合成释放,重建受损神经元,协助轴突生长,参与神经元存活再生;改善神

经生长微环境,拮抗神经元凋亡,促进神经细胞功能恢复;同时提升SOD活力,降低MDA浓度,提高清除氧自由基的能力^[21-23]。本研究结果表明,凉血通瘀方可显著升高急性脑出血模型大鼠脑、肠组织CCK-8含量,这一作用可能是其发挥神经保护作用的机制之一。

综上所述,凉血通瘀方对急性脑出血模型大鼠具有神经保护作用,其机制可能与增加脑、肠组织CCK-8的含量有关。未来可进一步研究本方调节肠道动力功能或肠道微生物变化的作用机制,以及通过迷走神经中枢途径和肠-肝循环外周途径影响中枢神经系统的作用机制。

参考文献

- [1] WU S M, WU B, LIU M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management[J]. Lancet Neurol, 2019, 18 (4): 394.
- [2] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国脑出血诊治指南(2019) [J]. 中华神经科杂志, 2019, 52 (12): 994.
- [3] 王永炎, 谢颖桢. 化痰通腑法治疗中风病痰热腑实证的源流及发展(四)——中风后脑肠轴改变及化痰通腑法治疗痰热腑实证的效应机理[J]. 北京中医药大学学报(中医临床版), 2013, 20 (4): 1.
- [4] 过伟峰, 张兰坤, 吴勉华, 等. 凉血通瘀中药治疗脑出血急性期168例疗效观察[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35 (9): 603.
- [5] 李建香, 赵杨, 过伟峰, 等. 通脑活络针刺法联合凉血通瘀方治疗急性脑出血35例疗效观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24 (10): 1458.
- [6] 李建香, 丁德经, 张兰坤, 等. 凉血通瘀方对脑出血实证患者血清神经营养因子和氧化应激的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61 (15): 1330.
- [7] 李建香, 赵杨, 过伟峰, 等. 凉血通瘀方对脑出血模型大鼠脑组织、肠组织、血清胆囊收缩素8的影响[J]. 中医杂志, 2019, 60 (8): 684.
- [8] HSU L T, HUNG K Y, WU H W, et al. Gut-derived cholecystokinin contributes to visceral hypersensitivity via nerve growth factor-dependent neurite outgrowth[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2016, 31 (9): 1594.
- [9] PIOTROWICZ Z, CHALIMONIU M, CZUBA M, et al. Role of brain-derived neurotrophic factor in appetite control[J]. Postepy Biochem, 2020, 66 (3): 205.
- [10] 李建香, 袁梦果, 刘云芳, 等. 注射泵控制器注血/二次退针法改良大鼠脑出血模型[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36 (6): 1015.
- [11] 赵凤鸣, 黄艳, 李国春. 凉血通瘀方对血管内皮细胞增殖、分泌及相关信号通路蛋白表达的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34 (5): 510.
- [12] CHAMORRO Á, LO E H, RENÚ A, et al. The future of neuroprotection in stroke[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2021, 92 (2): 129.
- [13] 李建香, 过伟峰, 傅淑平, 等. 基于脑肠互动探讨通腑泻热法治疗中风的机制[J]. 中医杂志, 2018, 59 (4): 292.
- [14] EFTIMIADI G, SOLIGO M, MANNI L, et al. Topical delivery of nerve growth factor for treatment of ocular and brain disorders[J]. Neural Regen Res, 2021, 16 (9): 1740.
- [15] ANAND S K, MONDAL A C. Neuroanatomical distribution and functions of brain-derived neurotrophic factor in zebrafish (Danio rerio) brain[J]. J Neurosci Res, 2020, 98 (5): 754.
- [16] SUN Y, ZHU X B, HOU J L, et al. Effects of mouse nerve growth factor in treating cerebral injury in acute period caused by cerebral hemorrhage[J]. Saudi J Biol Sci, 2020, 27 (10): 2701.
- [17] GUO Y C, SONG X K, XU Y F, et al. The expression and mechanism of BDNF and NGB in perihematomal tissue in rats with intracerebral hemorrhage[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21 (15): 3452.
- [18] ARONOWSKI J, ZHAO X R. Molecular pathophysiology of cerebral hemorrhage: secondary brain injury[J]. Stroke, 2011, 42 (6): 1781.
- [19] ZHAO Q P, QU R B, TENG L, et al. HO-1 protects the nerves of rats with cerebral hemorrhage by regulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2019, 15: 1459.
- [20] 王恒, 邵恩得, 张金荣, 等. 胆囊收缩素-8对高血压大鼠脑出血后核因子-κB活性的影响[J]. 河北医药, 2014, 36 (6): 812.
- [21] REHFELD J F. Cholecystokinin and the hormone concept[J]. Endocr Connect, 2021, 10 (3): R139.
- [22] HWANG C K, KIM D K, CHUN H S. Cholecystokinin-8 induces brain-derived neurotrophic factor expression in noradrenergic neuronal cells[J]. Neuropeptides, 2013, 47 (4): 245.
- [23] WEN D, AN M L, GOU H Y, et al. Cholecystokinin-8 inhibits methamphetamine-induced neurotoxicity via an anti-oxidative stress pathway[J]. Neurotoxicology, 2016, 57: 31.

第一作者: 李建香(1984—), 男, 医学博士, 副主任中医师, 从事中西医结合脑病研究。

通讯作者: 过伟峰, 医学博士, 教授, 研究员, 博士研究生导师。gwfwfg2003@sina.com

收稿日期: 2021-12-28

编辑: 吴 宁